RÔLE DES POLYOLS ET DES ACIDES AMINÉS DANS LA DIFFÉRENCIATION DES BOLETS

par C. ANDARY*, M.J. BOURRIER** et R. HAUPERT*

RÉSUMÉ – L'étude du mannitol et de l'arabitol ainsi que celle qualitative et quantitative des acides aminés libres chez les Bolets permet de dresser des profils biochimiques caractéristiques des différentes espèces. De plus le rapport entre les deux polyols cités nous fournit des indications supplémentaires d'ordre chimiotaxinomique. La mise en évidence de certains métabolites azotés réagissant à la ninhydrine permet une détection très fiable des espèces suspectes et toxiques qui appartiennent à la section *Luridi*.

SUMMARY – Study of mannitol, arabitol and qualitative and quantitative amino acids evaluation in Boletes, permit to establish a caracteristical and biochemical profile for the different species. Moreover the two polyols ratio gives additional chemotaxonomic indications. Finally some ninhydrin reacting metabolites allow a good reliable detection for the suspected and toxic species into *Luridi* section.

MOTS CLÉS : Bolets, polyols, acides aminés, chimiotaxinomie, différenciation des espèces.

INTRODUCTION

Les Bolets commercialisés sous l'étiquette «Cèpes de Bordeaux» doivent normalement correspondre à *Boletus edulis* Bull. : Fr. et *B. aereus* Bull.:Fr. Les autres espèces comestibles, mais de valeur gastronomique inférieure, sont parfois mélangées aux précédentes soit accidentellement soit sous forme de fraudes.

Parmi ces dernières espèces, il faut citer *Suillus luteus* (L.:Fr.) S.F. Gray, *S. granulatus* (L.:Fr.) Kuntze, *S. collinitus* (Fr.) Kuntze et *Xerocomus badius* (Fr.:Fr.) Gilb. qui sont, en petits fragments, pratiquement impossible à distinguer les uns des autres. Il n'existe en effet aucune méthode ou norme biochimique permettant le contrôle spécifique et l'analyse de la qualité des différentes espèces.

* Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie, Faculté de Pharmacie, 34060 Montpellier.

** Laboratoire Interrégional, Service de la Répression des Fraudes, 34000 Montpellier.

De plus, il faut savoir que certains Bolets peuvent occasionner, même après cuisson, des troubles gastro-intestinaux parfois très violents (SINGER, 1986). Ces bolets sont regroupés dans la section *Luridi*, à côté de *Boletus satanas* Lenz. La mise en évidence de la présence d'un fragment de Bolet appartenant à cette section revêt donc toute son importance dans le cadre d'un contrôle toxicologique.

Dans un travail précédent, nous avions, par une méthode originale d'identification et de dosage des polyols acycliques, différencié *B. edulis* des divers *Suillus* (ANDARY & al., 1979).

Poursuivant notre recherche de marqueurs biochimiques pour la différenciation d'un plus grand nombre de Bolets, nous avons mis au point l'étude des acides aminés libres par chromatographie sur couche mince à haute performance (CCMHP). Cette analyse a été complétée par le dosage de ces acides aminés par chromatographie liquide à haute pression (CLHP).

D'autre part la généralisation de l'étude des polyols à un plus grand nombre d'espèces, associée à l'étude des acides aminés pour chaque espèce, a permis l'exploitation de ces marqueurs tant pour la distinction des espèces qu'en chimiotaxinomie.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Espèces étudiées

(Classification selon ALESSIO & REDEUILH *in* BRILLOUET, 1987).

Boletinus cavipes (Opat.) Kalchbr.;
Boletus aereus Bull.:Fr.; *B. appendiculatus* Schaeff., *B. calopus* Pers.:Fr., *B. dupainii* Boud., *B. edulis* Bull.:Fr., *B. erythropus* (Fr.:Fr.) Krombh., *B. fechtneri* Velen., *B. impolitus* Fr., *B. lupinus* Fr., *B. luridus* Schaeff.:Fr., *B. pulchrotinctus* Aless., *B. queletii* Schulz., *B. radicans* Pers.:Fr., *B. regius* Krombh., *B. rhodopurpureus* Smotl. fo. *xanthopurpureus* Smotl., *B. rhodoxanthus* (Krombh.) Kall., *B. satanas* Lenz, *B. speciosus* Frost;
Chalciporus piperatus (Bull.:Fr.) Bat.;
Krombholziella duriuscula (Schulz. apud. Fr.) Imler;
Porphyrellus porphyrosporus (Fr.) Gilb., *Strobilomyces strobilaceus* (Scop.:Fr.) Berk.;
Suillus bellinii (Izeng.) Watl., *S. bovinus* (L.:Fr.) Kuntze, *S. collinitus* (Fr.) Kuntze, *S. granulatus* (L.:Fr.) Kuntze, *S. grevillei* (Klotzsch:Fr.) Sing., *S. luteus* (L.:Fr.) S.F. Gray, *S. tridentinus* (Bres.) Sing., *S. variegatus* (Swartz.:Fr.) Kuntze, *S. viscidus* (L.);
Xerocomus badius (Fr.:Fr.) Gilb., *X. chrysenteron* (Bull.) Quél., *X. pulverulentus* (Opat.) Gilb.

Analyse des polyols

La méthode de détection et de dosage des polyols est réalisée sur chromatoplaque de gel de silice à haute performance et a déjà fait l'objet d'un travail précédent (ANDARY & al., 1979).

Analyse des acides aminés libres

— Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM)

L'extraction des acides aminés est réalisée à partir de 500 mg de poudre de Bolet à analyser. Après macération en deux fois pendant 15 mn dans 2 x 25 ml d'eau portée à ébullition et filtration, l'extrait est concentré à l'évaporateur rotatif (35°C) et ramené à 10 ml. Cet extrait est additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique à 10 % jusqu'à pH = 2-3, puis délipidé par épuisement avec de l'éther éthylique (4 x 10 ml).

L'extrait acidifié est passé sur une résine Amberlite IR 120 H^+ (Prolabo : 200 x 10 mm). Après lavage de la résine à l'eau, ces acides aminés fixés sont élués par 50 ml d'ammoniaque à 10%. L'éluat est concentré à sec (évaporateur rotatif) et repris par 1 ou 2 ml d'éthanol à 50 %. Cet extrait purifié sert à la CCM bidimensionnelle ainsi qu'à la chromatographie liquide à haute pression.

La CCM bidimensionnelle est réalisée sur une petite plaque de cellulose (Merck, réf. : 5552) (10 x 10 cm) en déposant la quantité d'extrait purifié de Bolet correctement évaluée (entre 2 et 5 μl), de manière à obtenir des taches bien individualisées.

Les acides aminés témoins sont mis en solution à un pour mille, dans du méthanol à 30 %.

Les solvants de développement sont les suivants :

- **1ère dimension** : N-butanol-acétone-diéthylamine-eau (10:10:2:5)
- **2ème dimension** : isopropanol-acide formique-eau (40:2:10)

Les migrations pour les deux solvants se font sur une hauteur de 7 cm. Bien insister sur le séchage du chromatogramme après la première migration.

La révélation des acides aminés est réalisée au moyen d'un réactif polychromatique composé de deux solutions :

- **solution** (a) : 10 ml d'ac. acétique + 2 ml de collidine + 0,1 g de ninhydrine dissous dans 50 ml d'éthanol.
- **solution** (b) : 0,5 g de nitrate de cuivre ($Cu(NO_3)_2$, 3 H_2O) dissous dans 50 ml d'éthanol.

25 ml de la solution (a) sont mélangés à 1,5 ml de la solution (b) et après vaporisation du mélange, les chromatoplaques sont chauffées à 110° pendant 5 mn. Les acides aminés apparaissent colorés en violet, bleu, marron ou jaune.

— Analyse par chromatographie liquide à haute pression (CLHP)

L'extrait purifié, préparé selon la méthode développée au paragraphe précédent, est filtré avec une seringue porte-filtre (0,2 μ). L'analyse et le dosage des acides aminés libres sont effectués avec un analyseur automatique Chromakon 400 (Kontron). La séparation des acides aminés se fait par passage de l'extrait sur une résine échangeuse de cations (DC 6A Durrum) et élution au moyen de cinq tampons différents au citrate de lithium (Pierce «Pico Buffer» lithium). Ces divers tampons passent sur la phase stationnaire à diverses températures. Cette dernière est précédée d'une précolonne renfermant une résine (DC 3A

Durrum) qui fixe l'ammoniaque éventuellement présent dans les tampons. A la sortie de la colonne de séparation, la mise en évidence des acides aminés se fait par coloration à chaud avec un réactif à base de ninhydrine. Les chromophores obtenus sont détectés et dosés simultanément à 440 nm (en particulier pour la proline et l'hydroxyproline : coloration jaune) et à 570 nm (pour les autres acides aminés). L'identification d'acides aminés présentant des temps de rétention voisins est facilitée par l'enregistrement simultané des absorptions, à ces deux longueurs d'onde, dont le rapport est une constante pour chaque molécule.

La solution étalon correspondant à l'ensemble de tous les acides aminés est obtenue par le mélange des solutions suivantes = 0,1 ml de «Standard Pan Hamilton» + 0,1 ml de «Standard PB Hamilton» + 0,1 ml de solution de glutamine + 0,1 ml d'asparagine à 12,5 mM/l + 0,1 ml de proline à 10 mM/l + 0,1 ml de norleucine à 5 mM/l (utilisée comme étalon interne) + 0,4 ml de tampon «citrate de lithium» à pH = 2,2.

L'échantillon à analyser (0,5 ml) est mélangé à 0,1 ml de norleucine à 5 mM/l et 0,4 ml de tampon «citrate de lithium».



A et M : arabitol et mannitol
ED. : *Boletus edulis*
AE. : *B. aereus*
CA. : *B. calopus*
AL. : *B. radicans*
AP. : *B. appendiculatus*
SP. : *B. speciosus*
FE. : *B. fechtneri*
RE. : *B. regius*
IM. : *B. impolitus*
PL. : *Xerocomus pulverulentus*
PO. : *Porphyrellus porphyrosporus*
SF. : *Strobilomyces strobilaceus*

GR. : *Suillus granulatus*
CO. : *S. collinitus*
BE. : *S. bellinii*
LU. : *S. luteus*
GE. : *S. grevillei*
VI. : *S. viscidus*
TR. : *S. tridentinus*
VA. : *S. variegatus*
BO. : *S. bovinus*
B.C. : *Boletinus cavipes*
B.P. : *Chalciporus piperatus*

Fig. 1 – Chromatographie sur couche mince de gel de silice à haute performance du mannitol et de l'arabitol chez les différents Bolets.

Fig. 1 – High performance thin layer chromatography of polyols in some Boletes species.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les polyols

Les seuls polyols trouvés chez les Bolets sont le D-mannitol et le D-arabitol. La méthode d'analyse préconisée nous a permis de mettre en évidence et de

GENRE	SECTION	ESPECE	POLYOLS M (mg/g Champignon sec)	A	A/M*
Boletus	*EDULES*	*edulis*	10	-	0(0,05)
		aereus	20	-	0(0,05)
	CALOPODES	*calopus*	115	26	0,23
		radicans	104	22	0,21
	LURIDI	*satanas*	70	16	0,23
		lupinus	50	63	1,25
		pulchrotinctus	100	80	0,8
		rhodoxanthus	100	150	1,5
		xanthopurpureus	62	100	1,6
		luridus	100	20	0,2
		queletii	100	180	1,8
		erythropus	112	10	0,09
		dupainii	80	128	1,6
	APPENDICULATI	*appendiculatus*	127	-	0 - 0,1
Suillus	*SUILLI*	*granulatus*	50	75	1,5
		collinitus	17	31	1,8
		luteus	45	63	1,4
	FUNGOSI	*variegatus*	14	60	4
		bovinus	50	125	2,5
Boletinus		*cavipes*	40	75	1,8
Xerocomus		*badius*	70	-	0(0,05)
		chrysenteron	83	-	0(0,05)
Krombholziella	*SCABRAE*	*duriuscula*	140	30	0,2

*Les chiffres entre parenthèses correspondent à des rapports rencontrés exceptionnellement

Tableau 1 – Dosage du mannitol (M), de l'arabitol (A) et évaluation du rapport A/M chez les différents Bolets.

Table 1 – Mannitol (M) and arabitol (A) concentration and evaluation of A/M ratio in some Boletes species.

doser ces molécules à partir d'un extrait brut de champignon d'une façon précise et spécifique (Fig. 1 et Tabl. 1). La mise en évidence elle-même des polyols est très rapide (30 mn) et le dosage par spectrofluorimétrie directe sur chromatogramme (λ ex. = 375 nm, λ ém. = 490 nm) est jusqu'à 100 fois plus sensible que par les techniques classiques (limite de sensibilité de l'ordre de 20 nanogrammes de polyol). Par ailleurs, le rapport arabitol/mannitol (A/M) est intéressant à considérer car il ajoute une indication supplémentaire d'ordre chimique au classement des espèces. Les polyols sont en effet de bons marqueurs chimiotaxinomiques qui paraissent très fiables comme l'ont montré PFYFFER & RAST (1986).

Ainsi le genre *Suillus* apparaît très homogène avec un rapport A/M toujours supérieur à 1, ce qui correspond bien à une écologie identique pour toutes ces espèces. En effet, les *Suillus* sont tous mycorhiziens inféodés aux genres *Pinus* et *Larix*. La section *Edules (= Boletus)* se caractérise par un rapport A/M pratiquement nul mais avec des concentrations en mannitol particulièrement basses (10 à 20 mg/g de champignon sec). On peut, de ce fait, différencier très aisément sur un chromatogramme une espèce de la section *Edules* d'une espèce appartenant au genre *Xerocomus* qui possède également un rapport A/M presque nul mais avec une concentration en mannitol plus élevée (Tabl. 1).

Si nous examinons la section *Luridi*, il est difficile de classer ces espèces mais nous distinguons deux groupes :

– *B. erythropus, B. luridus, B. pulchrotinctus* et *B. satanas* avec un rapport A/M $<$ 1.

– *B. dupainii, B. queletii, B. lupinus, B. rhodopurpureus* fo. *xanthopurpureus* et *B. rhodoxanthus*, avec un rapport A/M $>$ 1.

Une étude plus poussée serait nécessaire pour confirmer ce classement. Du point de vue pratique certaines espèces telles que *B. edulis, Xerocomus badius* et *Suillus* sp., à l'état de petits fragments, peuvent être très rapidement distinguées par l'analyse des polyols. Ces espèces, souvent mélangées, posent des problèmes délicats de contrôle de qualité dans le domaine alimentaire du fait de l'inégalité de leur valeur gastronomique.

Les acides aminés

La CLHP nous permet de séparer et de doser 40 molécules réagissant à la ninhydrine : 35 acides aminés et 5 molécules apparentées (amines et dérivés basiques) (Fig. 2). L'ordre d'élution de ces différentes molécules est le suivant : phosphosérine (Ser (PO_4H_2)), taurine (Tau), phosphoethanolamine (Eta (PO_4H_2)), urée (Ur), acide aspartique (Asp), hydroxyproline (Hypro), thréonine (Thr), sérine (Ser), asparagine (Asp (NH_2)), acide glutamique (Glu), glutamine (Glu (NH_2)), sarcosine (Sar), acide α-amino adipique (α-AAd), proline (Pro), glycine (Gly), alanine (Ala), citrulline (Cit), acide α-aminobutyrique (α-AB), valine (Val), cystéine (Cyst), méthionine (Met), cystathionine (Cysta), isoleucine (Ileu), leucine (Leu), Nor-leucine (NLeu), tyrosine (Tyr), β-alanine (β-ala),

phénylalanine (Phe), acide β-aminobutyrique (β-AB), acide γ-aminobutyrique (γ-AB), éthanolamine (EtA), ammoniaque (Amc), DL-allohydroxyproline (A-Hypro), ornithine (Orn), lysine (Lys), 1-méthylhistidine (1-MH), histidine (His), tryptophane (Try), carnosine (Car), arginine (Arg).

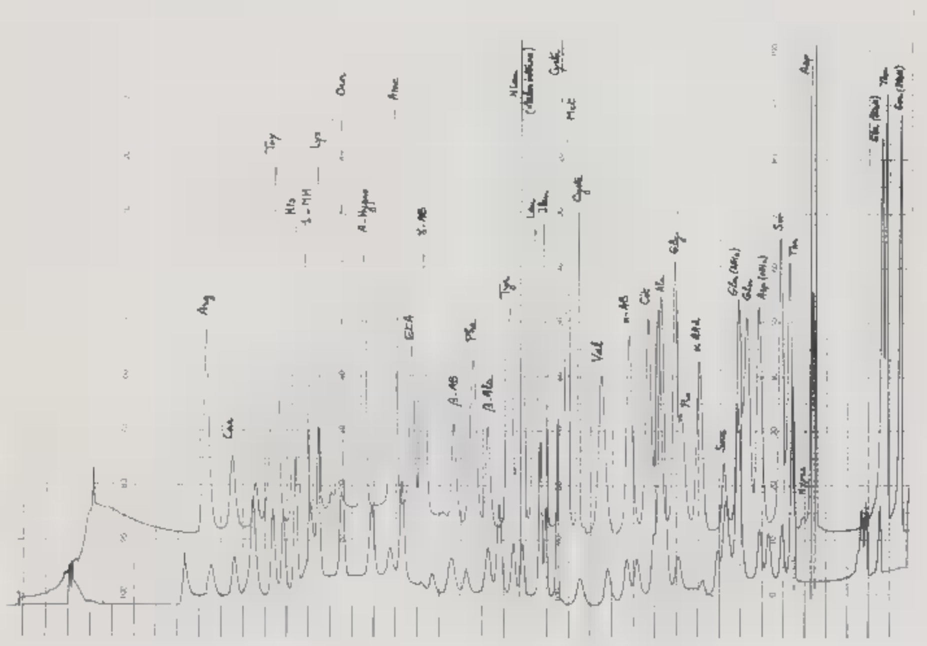


Fig. 2 — Chromatographie par CLHP d'un mélange d'acides aminés témoins (appareil chromakon 400).

Fig. 2 — HPLC chromatography of an amino acids mixture.

Parmi ces acides aminés, nous avons pu en identifier 27 chez les Bolets analysés qui représentent la quasi totalité des acides aminés libres décelables ainsi que 3 autres composés apparentés : la glutamine, l'éthanolamine et l'ammoniaque. Un acide aminé : la sarcosine, retrouvée sur certains aminogrammes, ne semblait pas être identifiée d'une façon certaine. De plus, il réagit difficilement avec la ninhydrine. Nous avons pu par CCM bidimensionnelle et au moyen d'un révélateur beaucoup plus sensible (réactif au nitroprussiate de sodium, MERCK, 1975), avec et sans ajout d'étalon interne de sarcosine, confirmer l'absence de cette molécule dans les extraits. Soulignons que la technique par CCM bidimensionnelle que nous avons utilisée nous permet de séparer 24 acides aminés et amines en moins de deux heures en matérialisant très concrètement ces molécules (Fig. 3). A partir des extraits de Bolets, nous avons identifié, par CCM, 22 acides aminés libres et distingué 4 molécules apparentées, appelées X_1, X_2, X_3

GENRE	SECTION	ESPECE	Asp	Thr	Ser	Asp(NH₂)	Glu	Glu(NH₂)	α.AAd	Pro	Gly	Ala	α.AnB	Val	Cyste	Met	Cysta
Boletus	EDULES	*edulis*	0,412	1,300	1,932	1,900	1,406	1,608	0,124	0,130	1,060	3,100	0,120	0,360	0,092	0,452	1,200
Boletus	CALOPODES	*calopus*	0,026	0,116	0,390	0,692	0,230	1,406	0,002	0,030	0,170	1,038	0,006	0,138	0,052	0,016	0,132
Boletus	CALOPODES	*radicans*	0,104	0,238	0,366	0,416	0,942	1,954	0,026	0,138	0,168	1,232	0,006	0,076	0,022	-	0,060
Boletus	LURIDI	*luridus*	0,122	0,474	1,360	1,236	1,994	3,320	0,106	0,262	0,634	2,294	0,058	0,430	0,030	0,088	0,030
Boletus	LURIDI	*queletii*	0,068	0,238	0,388	0,248	0,962	0,338	0,016	0,136	0,120	1,022	0,008	0,140	0,178	0,010	0,040
Boletus	LURIDI	*satanas*	0,298	0,602	0,944	-	4,000	4,498	0,134	-	1,560	0,828	2,504	0,296	0,156	-	-
Boletus	LURIDI	*pulchrotinctus*	-	0,470	0,654	0,274	1,506	1,952	0,062	-	0,828	1,486	-	0,272	0,142	-	0,026
Boletus	LURIDI	*erythropus*	0,034	0,186	0,576	0,544	0,472	0,538	0,010	0,068	0,588	0,706	0,078	0,192	0,022	0,008	0,328
Boletus	LURIDI	*dupainii*	-	0,226	0,508	0,502	0,904	0,754	0,026	-	0,036	1,054	0,014	0,114	0,110	-	0,030
Boletus	LURIDI	*lupinus*	-	0,044	0,036	-	2,054	-	-	-	3,450	0,466	-	-	0,120	-	-
Boletus	APPENDICULATI	*appendiculatus*	0,304	0,690	2,560	0,438	1,526	3,420	0,490	-	1,548	2,800	0,158	0,412	0,114	0,146	0,218
Suillus	SUILLI	*collinitus*	0,058	0,496	0,750	-	1,362	5,114	0,164	0,142	0,184	0,650	0,008	0,158	0,164	0,016	0,050
Suillus	SUILLI	*luteus*	0,078	0,394	0,680	0,354	3,308	1,684	0,094	0,156	0,178	0,852	0,004	0,228	0,126	0,016	0,082
Suillus	FUNGOSI	*variegatus*	0,076	0,552	0,888	-	2,662	2,754	0,076	0,194	0,200	0,950	-	0,260	0,178	0,008	0,250
Suillus	FUNGOSI	*bovinus*	0,174	0,540	0,786	0,778	2,060	4,632	0,218	-	0,140	1,062	-	0,234	-	-	0,168
Boletinus		*cavipes*	1,046	0,290	1,008	1,254	3,324	4,910	0,080	-	0,214	0,954	-	0,150	-	-	0,550
Xerocomus		*chrysenteron*	0,124	0,096	0,426	1,572	1,034	0,522	0,012	0,518	0,098	0,130	0,018	0,040	0,164	0,004	0,024
Krombholziella	SCABRAE	*duriuscula*	0,034	0,114	0,284	0,454	0,614	0,420	0,012	0,064	0,098	0,388	0,086	0,084	0,034	-	-

Tableau 2 – Dosage des acides aminés libres (en mg/g de champignon sec) réalisé par CLHP chez différents Bolets.

Table 2 — Free amino acids assay (in mg/g dried mushroom) by HPLC [redacted] some Boletes species.

GENRE (suite)	SECTION	ESPECE	Ileu	Leu	Tyr	β.Ala	Phe	β.AB	γ.AmB	EtA	Amc	Orn	Lys	His	Try	Car	Arg	Total % champ. sec
Boletus	EDULES	*edulis*	0,320	0,620	0,212	0,180	0,364	0,462	2,000	0,060	0,410	0,520	0,704	0,300	0,120	-	0,690	2,21
	CALOPODES	*calopus*	0,060	0,042	0,024	0,030	0,042	0,078	0,530	0,028	0,340	0,140	0,152	0,064	0,064	-	0,336	0,60
		radicans	0,022	0,018	0,058	0,042	0,046	0,254	0,274	0,014	0,396	0,198	0,102	0,080	0,118	-	0,368	0,77
	LURIDI	*luridus*	0,282	0,252	0,242	0,092	0,128	0,098	1,252	0,040	0,348	0,580	0,330	0,192	0,072	-	0,738	1,71
		queletii	0,070	0,080	0,118	0,044	0,058	0,128	0,664	0,024	0,278	0,060	0,072	0,056	0,042	-	0,070	0,59
		satanas	0,146	0,158	0,108	-	0,132	-	0,964	0,102	1,248	0,818	0,350	0,202	-	-	0,442	2,05
		pulchrotinctus	0,144	0,156	0,254	0,148	0,106	0,044	0,524	0,048	0,326	1,012	0,296	0,082	0,016	-	0,232	1,11
		erythropus	0,100	0,058	0,044	-	0,042	-	0,992	0,026	0,156	0,462	0,006	0,052	0,012	-	0,336	0,66
		dupainii	0,024	0,010	0,014	0,028	-	-	0,704	0,030	0,186	0,308	0,078	0,022	-	-	0,040	0,57
		lupinus	-	0,020	0,022	0,008	0,016	0,044	0,502	0,036	0,276	0,296	0,026	0,012	-	-	0,024	0,74
	APPENDICULATI	*appendiculatus*	0,336	0,466	0,212	0,248	0,268	0,266	1,332	0,076	0,278	2,440	0,364	0,124	-	-	0,282	2,15
Suillus	SUILLI	*collinitus*	0,094	0,096	0,376	0,098	0,238	0,210	0,170	0,070	0,246	0,948	0,156	0,434	0,264	0,120	1,798	1,46
		luteus	0,170	0,256	0,266	0,040	0,164	0,334	0,276	0,048	0,358	0,796	0,170	0,118	0,072	-	0,216	1,15
	FURFUSI	*variegatus*	0,168	0,248	0,238	0,090	0,200	0,146	0,540	0,068	0,666	0,504	0,420	0,242	0,130	-	1,018	1,38
		bovinus	0,088	0,184	0,216	-	0,330	0,068	0,442	0,006	0,186	1,262	0,576	0,252	0,074	-	0,818	1,52
Gyroporus		*cavipes*	0,092	-	0,256	0,020	0,144	-	0,544	0,020	0,344	0,550	-	0,688	0,092	-	1,248	1,77
Xerocomus		*chrysenteron*	0,020	0,008	0,078	0,142	0,018	0,014	1,236	0,198	0,104	0,310	0,460	0,082	0,104	0,040	0,488	0,80
Krombholziella	SCABRAE	*duriuscula*	0,048	0,062	0,596	-	0,042	-	0,336	0,024	0,104	0,146	0,098	0,052	0,048	-	0,026	0,41

et X_4, mais de structure inconnue. Les molécules X_3 et X_4 semblent caractéristiques de certains représentants de la section *Luridi : B. satanas, B. pulchrotinctus, B. lupinus* et *B. rhodoxanthus*. Nous pourrons donc les utiliser comme marqueurs biochimiques très précieux pour déceler des fragments de Bolets susceptibles d'être toxiques (nous avons été témoin durant l'automne de l'année 1986 d'intoxications dues à *B. pulchrotinctus*). La molécule X_1, (peu concentrée), semble caractéristique de *B. edulis*.

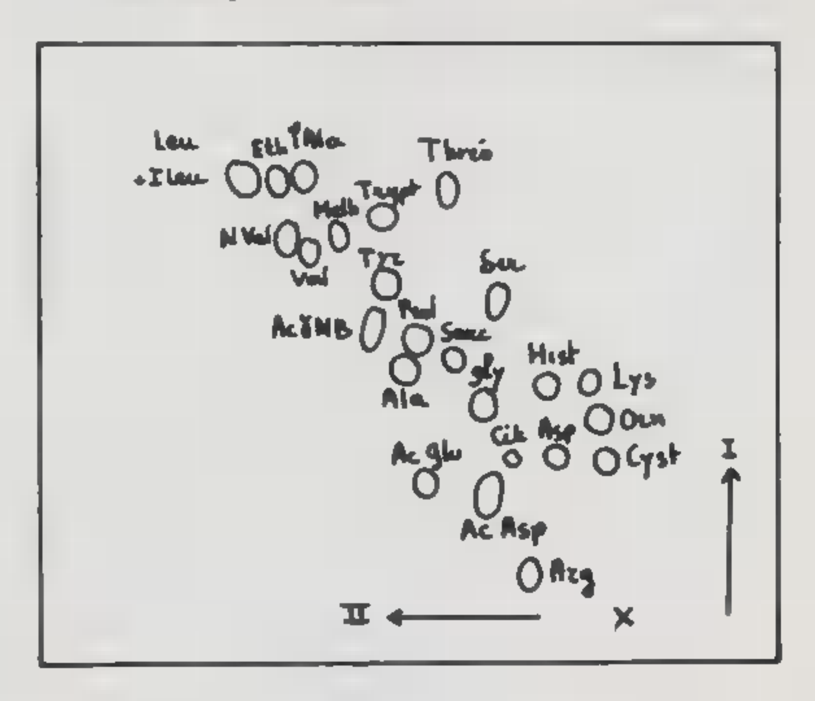


Fig. 3 — Chromatographie bidimensionnelle sur couche mince de cellulose d'un mélange d'acides aminés témoins.

Fig. 3 — Two dimensional thin layer chromatography on cellulose of an amino acids mixture.

D'une façon générale l'alanine, l'acide glutamique, la glutamine, l'acide γ-aminobutyrique et la sérine se trouvent à des concentrations relativement élevées chez la plupart des espèces étudiées. GENETET & al. (1984) ont montré que chez les champignons ectomycorhyziens l'évolution de la teneur en acides aminés libres est orientée vers la synthèse de la glutamine : glutamate et glutamine sont toujours les dérivés aminés les plus concentrés. Par contre, nous constatons que les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) sont très faiblement représentés pour l'ensemble des Bolets.

Notons également que certains acides aminés tels que : acide α-aminobutyrique, acide β-aminobutyrique, cystathionine et carnosine, n'avaient pas encore été décelés chez les Macromycètes. La carnosine qui se trouve à de faibles concentrations et uniquement chez *Suillus collinitus* et *Xerocomus chrysenteron*, est un acide aminé caractéristique du tissu musculaire. A notre connaissance, il n'avait pas encore été identifié chez les végétaux.

Enfin, à la lecture du Tableau 2, nous pouvons regrouper les Bolets analysés en trois catégories en fonction de la teneur globale en acides aminés libres (sans établir, pour autant, de relations taxinomiques) :

- *B. appendiculatus, B. edulis, B. satanas* : teneur en acides aminés supérieure à 2 %.

— *S. bovinus, B. cavipes, S. collinitus, B. lupinus, B. luridus, S. luteus, B. pulchrotinctus, S. variegatus* : teneur en acides aminés comprise entre 1 et 2 %.

— *B. calopus, X. chrysenteron, B. dupainii, K. duriuscula, B. erythropus, B. queletii, B. radicans* : teneur en acides aminés inférieure à 1 %.

Signalons que *B. satanas*, qui est l'espèce la plus riche en acides aminés libres, possède les taux les plus élevés en acide glutamique, en ammoniaque et particulièrement en acide α-aminobutyrique.

CONCLUSION

Par des méthodes simples, sensibles et rapides, nous avons étudié des marqueurs appartenant aussi bien au métabolisme primaire (polyols) qu'au métabolisme secondaire (acides aminés), chez les Bolets. Cette étude a permis de signaler la présence d'acides aminés qui n'avaient pas encore été rencontrés chez les Macromycètes (acide α- et β-aminobutyrique, cystathionine). De même la carnosine, acide aminé spécifique de la fibre musculaire a été trouvée pour la première fois chez les végétaux.

En comparant les divers champignons analysés, nous avons pu constater que la différenciation des espèces pouvait non seulement se faire par la combinaison de ces deux types de marqueurs, mais aussi par la variation quantitative des polyols et des acides aminés. L'ensemble de ces données biochimiques a été stocké grâce à un programme informatisé adapté permettant une exploitation pratique de ces marqueurs sur le plan taxinomique et également dans le domaine du contrôle toxicologique et de la qualité des aliments comportant des Bolets.

REMERCIEMENTS : nous tenons à remercier M. et Mme DOUMERGUE qui nous ont aidés efficacement dans la réalisation des aminogrammes, ainsi que Paul BERTEA, qui nous a fait bénéficier de ses excellentes connaissances sur la morphologie des Bolets et de ses exsiccata.

BIBLIOGRAPHIE

ANDARY C., PERSONNE D. et PRIVAT G., 1979 – Mise en évidence et dosage du mannitol et de l'arabitol chez les Bolets granulés. *Ann. Fals. Exp. Chim.* 72 : 527-537.

BRILLOUET J.M., 1987 – Les plus beaux Bolets de France. *L'Univers du vivant* 24 : 35-66.

GENETET I., MARTIN F. and STEWART J.R., 1984 – Nitrogen assimilation in mycorrhizas : ammonium assimilation in the N-starved ectomycorrhizal *Cenococcum graniforme*. *Pl. Physiol. (Lancaster)* 76 : 395-399.

MERCK E., 1975 – *Révélateurs pour la chromatographie en couches minces et sur papier.* R.F.A., Darmstadt, 149 p.

PFYFFER G.E. and RAST D.M., 1986 – The polyol pattern and chemosystematics of the fungi. *Bull. Brit. Mycol. Soc.* 20 : 9.

SINGER R., 1986 – *The agaricales in modern taxonomy.* Koenigstein, R.F.A., Koeltz Scientific Books, 4è ed., 981 p.